DADE BEHRING

Turbiquant® Komplementfaktoren (C3c, C4)

Intended Use

In vitro diagnostic for the quantitative determination of complement factors (C3c or C4) in human serum by means of immunoturbidimetry with the TurbiTimeSystem.

Summary and Explanation

The complement system is an integral part of the antigen-nonspecific immune defense. It can be activated via two reaction pathways, the classical pathway which is triggered primarily by cell-bound immune complexes, and the alternative pathway which is activated primarily by foreign bodies such as micro-organisms. The complement component C3 is a key protein in both reaction pathways, whereas C4 belongs to the classical pathway of complement activation. Complement activation is associated with consumption of components C3 or C4 so that a reduction in their concentrations can allow diagnostic conclusions to be reached. Diminished serum concentrations of C3 and C4 are observed primarily in active systemic lupus erythematosus (SLE), in forms of membrane proliferative glomerulonephritis and in immune complex diseases (serum sickness). In the case of SLE, the serum concentrations of the complement factors reflect the activity of the disease. Diminished C3 values occur in acute glomerulonephritis and in membrane proliferative glomerulonephritis, whereas isolated diminished levels of C4 can occur in hereditary angioneurotic edema (HAE) and in cases of autoimmune hemolytic anemia. Both complement components react as acute phase proteins and may therefore show elevated serum concentrations in patients with inflammatory diseases. Hereditary deficiency states of both complement factors have been reported[1-3].

Principle of the Method

The proteins contained in human bodily fluids form immune complexes in an immunochemical reaction with specific antibodies. The increasing light absorption of the reaction mixture is then tracked photometrically. The maximum reaction velocity V_{max} (peak-rate method) and the time (t_{vmax}) required to reach V_{max} is dependent on the concentration of the analyte in the sample[4]. The evaluation is performed by comparing the measured reaction parameters with the values obtained for a reference preparation. The reference curve is dependent on the lot, and is included with each pack of reagent in the form of a barcode. This also allows an automatic temperature compensation.

Reagents

Materials provided

Turbiquant® C3c, Code No. OUSP *or*
Turbiquant® C4, Code No. OUSR

1 vial each with 20 mL

Composition and Standardization

Turbiquant® reagents are fluid animal antisera containing hydrophilic polymers in a Tricine-buffered saline solution as a reaction accelerator. The antisera are manufactured by immunizing rabbits with highly purified human proteins (C3c or C4). The protein content of the respective reagent is printed on the vial label.

The standardization of Turbiquant® C3c or Turbiquant® C4 is performed in relation to an internal reference preparation of Dade Behring Marburg GmbH with reference to the international reference preparation CRM 470[5,6].

Preservative

sodium azide < 1 g/L, 5-chloro-2-methyl-4-isothiazol-3-one approx. 6 mg/L, 2-methyl-4-isothiazol-3-one approx. 2 mg/L

Warnings and Precautions

1. For *in vitro* diagnostic use only.
2. Reagents containing sodium azide must be handled with due caution:
   Do not ingest or allow to contact skin or mucous membranes. Sodium azide can form explosive azides if it comes into contact with heavy metals such as copper or lead.

Preparation of the Reagent

The Turbiquant® reagents are ready to use and may be used without additional preparation.

Storage and Stability

Storage at +2 to +8 °C: The expiry date is indicated on the label;

Stability after opening: 8 weeks, as long as vial is tightly closed again with rubber stopper and screw cap immediately after use and stored at +2 to +8 °C.

Turbiquant® reagents may also exhibit a limited amount of precipitation or turbidity when stored according to instructions. This is not caused by contamination and does not affect the results.

Do not freeze the reagents.

Additional materials required, but not provided

TurbiTimeSystem

N/T Protein Control SL/L, M and H (human), Code No. OQIN, OQIO and OQIP

Piston-type pipettes, 50 µL, 200 µL, 500 µL and 1000 µL

Isotonic saline solution (9 g NaCl/L)

Disposable supplies and equipment as described in the TurbiTimeSystem Instruction Manual.

Specimens

For testing, use the freshest possible human serum samples. Avoid repeated freezing and thawing. Serum samples must be fully coagulated and must not contain any particles or traces of fibrin after centrifuging. Lipemic samples must be clarified prior to the assay by centrifuging (10 minutes at approx. 15,000 x g).

Test procedure

Notes

1. Consult the TurbiTimeSystem Instruction Manual for detailed instructions.
2. Allow reagents and samples to reach room temperature (+18 to +25 °C) before testing in the TurbiTimeSystem.
3. If the barcode is not recognized in spite of repeated insertion of the vial (Display: "Please key in code for reagent"), the four-digit code on the reagent label must be keyed in.
4. The predetermined volumes of reagent and sample must be strictly observed, since the calibration curve is based on these volumes.

Reading the reference curve

How to read the barcode is described in the TurbiTimeSystem Instruction Manual.

Measuring patient samples

Serum samples are diluted 1:21 with isotonic saline. The dilutions must be measured within 4 hours. Place the vial of reagent in the reagent receptacle of the TurbiTimeSystem. Place 50 µL of the diluted sample (C3c) or 200 µL (C4) in a cuvette with a stirrer. Before pipetting the sample, the pipette tip must be rinsed once with the sample (see instructions of pipette manufacturer). The pipette tip should be near to the bottom of the cuvette when pipetting the sample. Insert the cuvette into the cuvette holder. Pipette 500 µL of reagent as soon as prompted to do so by the instrument. When pipetting the reagent, the pipette tip should be inserted approximately 1 cm into the cuvette. The measurement is performed automatically after adding reagent. Remove cuvette from holder when prompted to do so by the instrument.

Results producing a status message on the TurbiTimeSystem may necessitate a repeat measurement of higher sample dilutions. These are described in the TurbiTimeSystem Instruction Manual.

Internal Quality Control

The N/T Protein Controls SL/L, M and H should be analyzed the first time a reagent vial is used, as well as with each series of samples. The controls are assayed and evaluated like patient samples. The target value and confidence interval for the controls are given in the corresponding Table of Assigned Values.

If the result of the control measurements lies outside of the confidence interval, the control determination must be repeated. If the deviation is confirmed by the repeat measurement, then the measurement of the controls should be repeated with a fresh vial of reagent. Patient results should not be released until the cause of the deviation is identified and corrected.

Results

The evaluation is performed automatically in g/L or in a derived unit selected by the user of the TurbiTimeSystem.

Limitations of the Procedure

If the absorption is too high at the onset of the reaction, e.g. caused by strong turbidity or hemolysis, The TurbiTimeSystem displays a warning ("sample turbid absorbance > 1.5 A"). These samples, as well as those containing particles, must be centrifuged (10 minutes at approx. 15,000 x g) prior to testing. Lipemic samples that cannot be clarified by centrifuging must be excluded from testing.

When determining C3, it must be taken into consideration that the Turbiquant® C3c reagent reacts more strongly with C3c fragments than with intact C3. The fragmenting of C3 into C3c fragments advances at different rates depending on the degree of aging and the conditions under which the serum samples are stored. In immunoturbidimetric determination, fresh samples yield up to 35% lower C3 values than aged samples. The fragmenting of C4 into more stable C4c fragments occurs significantly more slowly during storage of serum samples than for C3 components. But here also, an increase in C4 values can be observed in immunoturbidimetric determination with increasing storage time.

In rare cases, the presence of a monoclonal immunoglobulin may interfere with the determination of the parameters themselves as well as the determination of other plasma proteins of the same type so that detection is not possible and no status report can be issued. Therefore, if the presence of a monoclonal immunoglobulin is suspected (or indication of a plasmacytoma), the determination of the paraprotein itself and of the other plasma proteins should be repeated with a higher dilution (e.g. 1:210, 1:441).

The results of these tests should always be interpreted in combination with the medical history and clinical profile of the patient as well as other medical examination results.

Because of matrix effects, differing results for control and interlaboratory proficiency test samples may result depending on the determination method used. Therefore, it may be necessary to undertake the evaluation of these results with method-specific target values.

Reference ranges

The following reference ranges are valid for serum samples from healthy adult test subjects[7]:

Protein	
C3c*	0.9 - 1.8 g/L
C4	0.1 - 0.4 g/L

* Lower C3 concentrations are to be expected in fresh serum samples.

In addition, each laboratory should determine its own reference ranges, since these are dependent on the age of the sample and are subject to additional variables that may be different for each population tested.

Specific Performance Characteristics

Measurement Range and Sensitivity

The following measurement ranges are valid for the TurbiTimeSystem when using 1:21 diluted samples:

Protein	Measurement range (g/L)
C3c	0.3 - 4.5
C4	0.045 - 1.17

Higher concentrations can be determined if samples are diluted with isotonic saline in correspondingly higher dilutions, e.g. 1:42. This is described in the TurbiTimeSystem Instruction Manual.

The sensitivity for the TurbiTimeSystem is defined by the lower limit of the measuring range for an assay.

Specificity

The antisera used react with the intact complement proteins C3 or C4, as well as to a greater degree with their decomposition products C3c or C4c.

Precision

The precision of the determination with Turbiquant® C3c or C4 was determined in both the series (intraassay) and from day to day (interassay), each with three samples. The following coefficients of variation (CV) were obtained:

Protein	Intraassay precision (n = 20)		Interassay precision (n = 10)	
	Mean value (g/L)	CV (%)	Mean value (g/L)	CV (%)
C3c	0.39	4.9	0.35	6.5
	0.78	4.0	0.73	5.5
	1.25	4.5	1.20	5.0
C4	0.10	4.9	0.10	7.8
	0.22	3.3	0.22	7.6
	0.38	1.8	0.38	4.7

Method comparison

Samples were tested with Turbiquant® C3c or Turbiquant® C4 (y) and also with the N Antisera against human complement factors in the BN* System (x). Correlation of the results provided the following data:

Protein	n	Passing-Bablok Regression	Correlation coefficient
C3c	102	y (TTS) = 1.00 x (BNS) - 0.03 g/L	0.974
C4	433	y (TTS) = 0.95 x (BNS) - 0.01 g/L	0.946

Note

The values indicated for the "Specific Performance Characteristics" represent typical results and are not to be considered specifications for Turbiquant® C3c or Turbiquant® C4.

Bibliography

1. Thomas L. The complement system. In: Thomas L, ed. Clinical Laboratory Diagnostics. Frankfurt: TH-Books Verlagsgesellschaft, 1998: 794-806.
2. Hebert LA, Cosio FG, Neff JC. Diagnostic significance of hypocomplementemia. Kidney Int 1991; 39: 811-21.
3. West CD. The complement profile in clinical medicine. Inherited and acquired conditions lowering the serum concentrations of complement components and control proteins. Complement Inflamm 1989; 6: 49-64.
4. Metzmann, E. Protein quantitation on both branches of the Heidelberger curve by monitoring the kinetics of immunoprecipitation.Behring Institute Mitteilungen 1985 ; 78 : 167-75.
5. Baudner S, Bienvenu J, Blirup-Jensen S, et al. The certification of a matrix reference material for immunochemical measurement of 14 human serum proteins. CRM 470. Brussels: Community Bureau of Reference, Commision of the European Communities. BCR Information, Reference Materials. 1993 report EUR 15243 EN (ISSN 1018-5593): 1-172.
6. Whicher JT, Ritchie RF, Johnson AM, et al. New international reference preparation for proteins in human serum (RPPHS). Clin Chem 1994; 40: 934-8.
7. Dati F, Schumann G, Thomas L, et al. Consensus of a group of professional societies and diagnostic companies on guidelines for interim reference ranges for 14 proteins in serum based on the standardization against the IFCC/BCR/CAP Reference Material (CRM 470). International Federation of Clinical Chemistry. Community Bureau of Reference of the Commission of the European Communities. College of American Pathologists. Eur J Clin Chem Clin Biochem 1996; 34: 517-20.

Turbiquant is a registered trademark of Dade Behring Marburg GmbH in the USA, Germany and other countries.

* BN is a trademark of Dade Behring Marburg GmbH in the USA.

Dade Behring Marburg GmbH
Emil-von-Behring-Str. 76
D-35041 Marburg
www.dadebehring.com

USA Distributor: Dade Behring Inc.
Newark, DE 19714 U.S.A.

CE

Turbiquant® Komplementfaktoren (C3c, C4)

Anwendungsbereich

In-vitro-Diagnostika zur quantitativen Bestimmung von Komplementfaktoren (C3c bzw. C4) in humanem Serum mittels Immunturbidimetrie mit dem TurbiTimeSystem.

Diagnostische Bedeutung

Das Komplementsystem ist Bestandteil der antigen-unspezifischen Immunabwehr. Es kann über zwei Reaktionswege aktiviert werden, den klassischen Weg, der vor allem durch zellgebundene Immunkomplexe ausgelöst wird, und den alternativen Weg, der vor allem durch Fremdkörper wie Mikroorganismen aktiviert wird. Die Komplementkomponente C3 ist ein Schlüsselprotein beider Reaktionswege, während C4 dem klassischen Aktivierungsweg angehört. Die Komplementaktivierung geht mit einem Verbrauch der Komponenten C3 bzw. C4 einher, so dass aus deren Konzentrationsverminderung diagnostische Rückschlüsse gezogen werden können. Erniedrigte Serumkonzentrationen von C3 und C4 werden vor allem bei aktivem systemischen Lupus Erythematodes (SLE), bei Formen der membranoproliferativen Glomerulonephritis und bei Immunkomplexkrankheiten (Serumkrankheit) beobachtet. Beim SLE gibt die Erniedrigung der Serumkonzentration der Komplementfaktoren die Krankheitsaktivität wieder. Erniedrigungen von C3 treten bei akuter Glomerulonephritis und bei membranoproliferativer Glomerulonephritis auf, während isolierte Erniedrigungen von C4 beim hereditären Angioödem (HAE) und bei autoimmunhämolytischer Anämie vorkommen können. Beide Komplementkomponenten reagieren als schwache Akute-Phase-Proteine und können daher bei entzündlichen Erkrankungen erhöhte Serumkonzentrationen aufweisen. Hereditäre Mangelzustände beider Komplementfaktoren sind beschrieben worden[1-3].

Prinzip der Methode

Die in menschlichen Körperflüssigkeiten enthaltenen Proteine bilden in einer immunchemischen Reaktion mit spezifischen Antikörpern Immunkomplexe. Die dadurch zunehmende Lichtabsorption des Reaktionsansatzes wird photometrisch verfolgt. Die maximale Reaktionsgeschwindigkeit V_{max} (Peakrate-Methode) und die Zeit (t_{Vmax}), die bis zum Erreichen von V_{max} benötigt wird, ist abhängig von der Konzentration des Proteins in der Probe[4]. Die Auswertung erfolgt durch den Vergleich der gemessenen Reaktionsparameter mit den für ein Referenzpräparat erhaltenen Werten. Die Referenzkurve ist chargenabhängig und jeder Reagenzpackung in Form eines Barcodes beigefügt. Dieser ermöglicht darüber hinaus eine automatische Temperaturkompensation.

Reagenzien

Inhalt der Handelspackung

Turbiquant® C3c, Bestell-Nr. OUSP *oder*
Turbiquant® C4, Bestell-Nr. OUSR

je 1 Flasche mit 20 ml

Zusammensetzung und Standardisierung

Turbiquant® Reagenzien sind tierische, flüssige Antisera, die als Reaktionsbeschleuniger hydrophile Polymere in einer Tricin-gepufferten Natriumchlorid-Lösung enthalten. Die Antisera werden durch Immunisierung von Kaninchen mit hochgereinigten humanen Proteinen (C3c bzw. C4) hergestellt. Der Proteingehalt des jeweiligen Reagenzes ist auf dem Flaschenetikett aufgedruckt.

Die Standardisierung von Turbiquant® C3c bzw. Turbiquant® C4 erfolgt mit einer internen Referenzpräparation der Dade Behring Marburg GmbH unter Bezug auf die internationale Referenzpräparation CRM 470[5, 6].

Konservierungsmittel

Natriumazid < 1 g/l, 5-Chlor-2-methyl-4-isothiazol-3-on ca. 6 mg/l, 2-Methyl-4-isothiazol-3-on ca. 2 mg/l

Warnungen und Vorsichtsmaßnahmen

1. Nur zur *in-vitro*-diagnostischen Anwendung.
2. Beim Umgang mit Natriumazid-haltigen *In-vitro*-Diagnostika ist zu beachten:
   Verschlucken und Kontakt mit Haut oder Schleimhäuten vermeiden. Natriumazid kann mit Schwermetallen, wie Kupfer oder Blei, explosive Azide bilden.

Vorbereitung des Reagenzes

Die Turbiquant® Reagenzien sind gebrauchsfertig und können ohne weitere Vorbehandlung eingesetzt werden.

Haltbarkeit und Lagerungsbedingungen

Lagerung bei +2 bis +8 °C:

das Verfallsdatum ist auf dem Etikett angegeben;

Stabilität nach Öffnen:

8 Wochen, sofern unmittelbar nach Gebrauch wieder dicht verschlossen mit Gummistopfen und Schraubkappe bei +2 bis +8 °C gelagert.

Turbiquant® Reagenzien können auch bei vorschriftsmäßiger Lagerung geringfügige Ausflockungen oder Trübungen zeigen. Diese sind nicht durch Unsterilität verursacht und beeinträchtigen das Messergebnis nicht.

Die Reagenzien dürfen nicht eingefroren werden.

Zusätzlich benötigte Materialien

TurbiTimeSystem

N/T Protein-Kontrolle SL/L, M und H (human), Bestell-Nr. OQIN, OQIO und OQIP

Kolbenhubpipette, 50 µl, 200 µl, 500 µl und 1000 µl

Isotonische Kochsalzlösung (9 g NaCl/l)

Verbrauchsmaterial und Ausrüstung wie in der Bedienungsanleitung des TurbiTimeSystems beschrieben.

Untersuchungsmaterial

Zur Messung sollen möglichst frische humane Serumproben eingesetzt werden. Wiederholtes Einfrieren und Auftauen ist zu vermeiden. Serumproben müssen vollständig geronnen sein und dürfen nach Zentrifugation keine Partikel oder Spuren von Fibrin enthalten. Lipämische Proben müssen vor der Bestimmung durch Zentrifugation (10 min bei ca. 15.000 x g) geklärt werden.

Testdurchführung

Hinweise

1. Einzelheiten zur Bedienung des TurbiTimeSystems sind der Bedienungsanleitung zu entnehmen.
2. Reagenzien und Proben sollen vor der Messung am TurbiTimeSystem Raumtemperatur (+18 bis +25 °C) erreicht haben.
3. Wird auch bei mehrmaliger Wiederholung des Einstellvorganges der Reagenzflasche der Barcode nicht erkannt (Anzeige: "Reagenz-Code eingeben"), so muss der vierziffrige Code auf dem Flaschenetikett über die Tastatur eingegeben werden.
4. Die vorgegebenen Reagenz- und Probenvolumina sind unbedingt einzuhalten, da sich die Kalibrationskurve auf diese Volumina bezieht.

Einlesen der Referenzkurve

Das Einlesen des Barcodes ist in der Bedienungsanleitung des TurbiTimeSystems beschrieben.

Messung der Patientenproben

Serumproben werden 1:21 mit isotonischer Kochsalzlösung verdünnt. Die Verdünnungen müssen innerhalb von 4 Stunden gemessen werden. Reagenzflasche in den Reagenzschacht des TurbiTimeSystems einstellen. Von der verdünnten Probe 50 µl (C3c) bzw. 200 µl (C4) in eine Küvette mit Rührer vorlegen. Vor dem Pipettieren muss die Pipettenspitze einmal mit der Probe vorgespült werden (siehe Gebrauchsanleitung des Pipettenherstellers). Beim Einpipettieren der Probe soll die Pipettenspitze nahe dem Küvettenboden sein. Küvette in den Küvettenschacht einsetzen. 500 µl Reagenz einpipettieren, sobald dies vom Gerät angezeigt wird. Beim Einpipettieren soll die Pipettenspitze etwa 1 cm in die Küvette eingeführt werden. Die Messung erfolgt automatisch nach der Reagenzzugabe. Küvette aus dem Schacht entfernen, sobald dies vom Gerät angezeigt wird.

Ergebnisse, die am TurbiTimeSystem zu einer Statusmeldung führen, können Wiederholungsmessungen aus weiteren Probenverdünnungen erforderlich machen. Diese sind in der Bedienungsanleitung des TurbiTimeSystems beschrieben.

Interne Qualitätskontrolle

Die N/T Protein-Kontrollen SL/L, M und H sollen bei erstmaliger Verwendung einer Reagenzabfüllung sowie bei jeder Serie von Proben eingesetzt werden. Die Kontrollen werden im Ansatz und bei der Auswertung wie Patientenproben behandelt. Sollwert und Vertrauensbereich der Kontrollen sind der entsprechenden Tabelle der Sollwerte zu entnehmen.

Wenn das Ergebnis der Kontrollmessungen außerhalb des Vertrauensbereichs liegt, ist die Kontrollbestimmung zu wiederholen. Wird die Abweichung durch die Wiederholungsmessung bestätigt, sollte eine Wiederholungsmessung der Kontrollen mit einer neuen Reagenzabfüllung erfolgen. Patientenergebnisse dürfen erst dann wieder freigegeben werden, wenn die Ursache der Abweichung identifiziert und behoben wurde.

Ergebnisse

Die Auswertung erfolgt automatisch in g/l oder in einer vom Benutzer am TurbiTimeSystem auszuwählenden abgeleiteten Masseneinheit.

Einschränkungen der Testdurchführung

Bei zu hoher Absorption des Reaktionsansatzes, z. B. bedingt durch starke Trübungen oder Hämolyse, gibt das TurbiTimeSystem einen Warnhinweis ("Eigentrübung der Probe > 1,5 E"). Derartige Proben, sowie Proben, die Partikel enthalten, müssen vor der Bestimmung zentrifugiert werden (10 min bei ca. 15.000 x g). Lipämische Proben, die durch Zentrifugation nicht zu klären sind, sind von der Bestimmung auszuschließen.

Bei der Bestimmung von C3 ist zu berücksichtigen, dass das Turbiquant® C3c Reagenz mit dem C3c-Fragment stärker reagiert als mit intaktem C3. Je nach Alterungsgrad und Lagerungsbedingungen der Serumproben ist die Fragmentierung von C3 zum C3c-Fragment unterschiedlich weit fortgeschritten. In frischen Proben werden bei der immunturbidimetrischen Bestimmung bis zu 35% niedrigere C3-Werte als in gealterten Proben erhalten. Die Fragmentierung von C4 zum stabileren C4c-Fragment verläuft bei Lagerung der Serumproben wesentlich langsamer als die der C3-Komponente. Auch hier ist bei der immunturbidimetrischen Bestimmung ein Anstieg der C4-Werte mit zunehmender Lagerungsdauer zu beobachten.

In seltenen Fällen kann durch die Anwesenheit eines monoklonalen Immunglobulins die Bestimmung des Parameters selbst sowie auch die Bestimmung anderer Plasmaproteine derart gestört sein, dass eine Erkennung nicht möglich ist und keine Statusmeldung erfolgen kann. Daher sollte bei Verdacht auf Anwesenheit eines monoklonalen Immunglobulins (bzw. Hinweis auf ein Plasmozytom) die Bestimmung des Paraproteins selbst und die der anderen Plasmaproteine aus einer höheren Verdünnung wiederholt werden (z.B. 1:210, 1:441).

Resultate dieser Teste sollten stets in Verbindung mit der Vorgeschichte des Patienten, dem klinischen Bild und anderen Untersuchungsergebnissen interpretiert werden.

Aufgrund von Matrixeffekten können für Kontroll- und Ringversuchsproben unterschiedliche Ergebnisse in Abhängigkeit von der verwendeten Bestimmungsmethode resultieren. Es kann daher notwendig sein, die Bewertung dieser Ergebnisse an methoden-spezifischen Zielwerten vorzunehmen.

Referenzbereiche

Für Serumproben gesunder erwachsener Probanden gelten folgende Referenzbereiche[7]:

Protein	
C3c*	0,9 - 1,8 g/l
C4	0,1 - 0,4 g/l

* In frischen Serumproben sind niedrigere C3-Konzentrationen zu erwarten.

Darüber hinaus sollte jedes Labor seine eigenen Referenzbereiche ermitteln, da diese vom Probenalter abhängen und weiteren Einflussgrößen unterliegen, die für jedes untersuchte Kollektiv verschieden sein können.

Leistungsmerkmale der Bestimmung

Messbereich und Empfindlichkeit

Bei der Verwendung von 1:21 verdünnten Proben gelten am TurbiTimeSystem nachfolgende Messbereiche:

Protein	Messbereich (g/l)
C3c	0,3 - 4,5
C4	0,045 - 1,17

Höhere Konzentrationen können bestimmt werden, wenn Proben mit isotonischer Kochsalzlösung entsprechend höher verdünnt werden, z. B. 1:42. Dies ist in der Bedienungsanleitung des TurbiTimeSystems beschrieben.

Am TurbiTimeSystem ist die Nachweisgrenze durch die untere Messbereichsgrenze eines Assays festgelegt.

Spezifität

Die eingesetzten Antiseren reagieren mit den intakten Komplementproteinen C3 bzw. C4, sowie in einem stärkeren Ausmaß auch mit deren Spaltprodukten C3c bzw. C4c.

Präzision

Die Präzision der Bestimmung mit Turbiquant® C3c bzw. C4 wurde sowohl in der Serie (Intraassay) als auch von Tag zu Tag (Interassay) mit jeweils drei Proben ermittelt. Dabei ergaben sich nachfolgende Variationskoeffizienten (VK):

Protein	Intraassay-Präzision (n = 20)		Interassay-Präzision (n = 10)	
	Mittelwert (g/l)	VK (%)	Mittelwert (g/l)	VK (%)
C3c	0,39	4,9	0,35	6,5
	0,78	4,0	0,73	5,5
	1,25	4,5	1,20	5,0
C4	0,10	4,9	0,10	7,8
	0,22	3,3	0,22	7,6
	0,38	1,8	0,38	4,7

Methodenvergleich

Serumproben wurden mit Turbiquant® C3c bzw. Turbiquant® C4 (y) und parallel dazu mit den N Antisera gegen die Human-Komplementfaktoren am BN* System (x) bestimmt. Die Korrelation der Ergebnisse lieferte folgende Daten:

Protein	n	Passing-Bablok Regression	Korrelationskoeffizient
C3c	102	y (TTS) = 1,00 x (BNS) - 0,03 g/l	0,974
C4	433	y (TTS) = 0,95 x (BNS) - 0,01 g/l	0,946

Anmerkung

Die angegebenen Werte für die "Leistungsmerkmale der Bestimmung" stellen typische Ergebnisse dar und sind nicht als Spezifikationen für Turbiquant® C3c oder C4 anzusehen.

Literatur

siehe Seite 1

Turbiquant ist eine eingetragene Marke der Dade Behring Marburg GmbH in den USA, Deutschland und anderen Ländern.

* BN ist eine Marke der Dade Behring Marburg GmbH in den USA.

Dade Behring Marburg GmbH
Emil-von-Behring-Str. 76
D-35041 Marburg
www.dadebehring.com

Ausgabe Oktober 2003

Turbiquant® Facteurs du Complément (C3c, C4)

Domaine d'utilisation

Réactifs *in vitro* pour la détermination quantitative des facteurs du complément (C3c ou C4) dans le sérum humain, par immunoturbidimétrie à l'aide du TurbiTimeSystem.

Intérêt diagnostique

Le système du complément est un élément de la défense immunitaire non spécifique d'un antigène. Il peut être activé selon deux voies, la voie classique, essentiellement déclenchée par des immuncomplexes fixés aux cellules, et la voie alterne, principalement activée par des corps étrangers comme les microorganismes. Le facteur du complément C3 est une protéine-clé des deux voies réactionnelles, alors que le C4 appartient à la voie d'activation classique. L'activation du complément s'accompagne d'une consommation des facteurs C3 et C4, de sorte qu'une diminution de leur concentration permet de tirer des conclusions sur le plan diagnostique. Une diminution de la concentration sérique du C3 et du C4 est surtout observée en cas de lupus érythémateux systémique (LES), dans des formes de la glomérulonéphrite membrano-proliférative, ainsi qu'en cas de maladies des immuncomplexes (maladie du sérum). Dans le LES, la diminution de la concentration sérique des facteurs du complément reflète l'activité de la maladie. Des diminutions de C3 apparaissent en cas de glomérulonéphrite aiguë ou membrano-proliférative, alors que des diminutions isolées de C4 peuvent être observées en cas d'angio-œdème héréditaire (AOH) ou d'anémie hémolytique autoimmune. Les deux facteurs du complément réagissent comme des protéines de la phase aiguë faibles ; leurs concentrations sériques peuvent être augmentées en cas de maladie inflammatoire. Des cas de déficits héréditaires des deux facteurs du complément ont été décrits[1-3].

Principe de la méthode

Les protéines contenues dans les liquides du corps humain forment, dans le cadre d'une réaction immunochimique, des immuncomplexes avec les anticorps spécifiques. L'absorption lumineuse du mélange réactionnel qui se trouve ainsi augmentée est mesurée photométriquement. La vitesse maximale de réaction V_{max} (méthode du peak rate) et le temps nécessaire à l'obtention de la V_{max} (t_{vmax}) sont fonction de la concentration en protéine de l'échantillon[4]. L'exploitation se fait par comparaison entre les paramètres réactionnels mesurés et les valeurs obtenues avec une préparation de référence. La courbe de référence, qui varie avec chaque lot, est jointe à chaque coffret de réactifs sous la forme d'un code-barres; ce dernier permet par ailleurs une compensation automatique de la température.

Réactifs

Conditionnements

Turbiquant® C3c, code OUSP ou
Turbiquant® C4, code OUSR

contiennent chacun 1 flacon de 20 ml

Composition et standardisation

Les réactifs Turbiquant® sont des antisérums liquides, d'origine animale, qui contiennent des polymères hydrophiles en solution de chlorure de sodium tamponnée à la tricine comme accélérateur de la réaction. Les antisérums sont préparés par immunisation de lapins avec des protéines humaines (C3c ou C4) hautement purifiées. Le taux de protéine de chaque réactif est indiqué sur l'étiquette du flacon.

La standardisation de Turbiquant® C3c et de Turbiquant® C4 se fait à l'aide d'une préparation de référence interne à Dade Behring Marburg GmbH, par rapport à la préparation de référence internationale CRM 470[5,6].

Conservateurs

< 1g/l d'azide de sodium, env. 6 mg/l de 5-chloro-2-méthyl-4-isothiazoline-3-one, env. 2 mg/l de 2-méthyl-4-isothiazoline-3-one

Mises en garde et précautions d'emploi

1. Réservé à un usage de diagnostic *in vitro*.
2. Les réactifs *in vitro* contenant de l'azide de sodium doivent être manipulés avec précaution:
   ne pas avaler et éviter tout contact avec la peau ou les muqueuses. L'azide de sodium peut devenir explosif au contact de métaux lourds comme le cuivre ou le plomb.

Préparation des réactifs

Les réactifs Turbiquant® sont prêts à l'emploi et peuvent être utilisés sans aucun traitement préalable.

Stabilité et conditions de conservation

Conservation à +2/+8 °C:

la date de péremption est indiquée sur l'étiquette du flacon.

Stabilité après ouverture:

8 semaines, à condition de bien refermer le flacon avec son bouchon de caoutchouc et sa capsule vissée immédiatement après emploi, et de le conserver à +2/+8 °C.

Même conservés dans les conditions prescrites, les réactifs Turbiquant® peuvent devenir troubles ou présenter une légère floculation. Ces phénomènes ne sont pas dus à une absence de stérilité et n'influencent pas les résultats du test.

Ne pas congeler les réactifs.

Matériel et autres réactifs nécessaires

TurbiTimeSystem

N/T Contrôles Protéines SL/L,M et H (humains), codes OQIN,OQIO et OQIP

Pipettes à embouts de 50 µl, 200 µl, 500 µl et 1000 µl

Sérum physiologique isotonique (9 g de NaCl/l)

Consommables et équipement divers : se reporter au manuel d'utilisation du TurbiTimeSystem.

Echantillons à tester

Utiliser des échantillons sériques humains de préférence frais, sinon congelés. Ils ne peuvent être congelés qu'une seule fois. Les échantillons sériques doivent être totalement coagulés et ne plus contenir aucune particule ni trace de fibrine après centrifugation. Les échantillons lipémiques doivent être clarifiés par centrifugation (10 min à env. 15 000 x g) avant leur utilisation dans le test.

Réalisation du test

Remarques

1. Pour plus de détails sur l'utilisation du TurbiTimeSystem, se reporter au manuel d'utilisation de l'appareil.
2. Porter réactif et échantillons à la température ambiante (+18/+25 °C) avant leur emploi sur le TurbiTimeSystem.
3. Si, malgré plusieurs tentatives, le code-barres du flacon réactif n'est pas lu par l'appareil (message : "entrer le code réactif"), saisir le code à quatre chiffres inscrit sur l'étiquette du flacon à l'aide du clavier.
4. Respecter impérativement les volumes de réactif et d'échantillon indiqués, car la courbe d'étalonnage est basée sur ces volumes.

Lecture de la courbe d'étalonnage

La lecture du code-barres est décrite dans le manuel d'utilisation du TurbiTimeSystem.

Mesure des échantillons de patients

Diluer les échantillons sériques au 1/21 en sérum physiologique isotonique. Les dilutions doivent être testées dans les 4 heures. Placer le flacon réactif dans le puits réactif du TurbiTimeSystem. Prédistribuer 50 µl (C3c) ou 200 µl (C4) d'échantillon dilué dans une cuve avec agitateur. Avant de pipeter, rincer une fois l'embout de la pipette avec l'échantillon (cf. manuel d'utilisation du fabricant de la pipette utilisée). Lors de la distribution de l'échantillon, veiller à ce que l'embout de la pipette touche presque le fond de la cuve. Placer la cuve dans le puits cuve. Distribuer 500 µl de réactif dès que l'appareil le demande, en enfonçant l'embout de la pipette d'environ 1 cm dans la cuve. Dès l'addition du réactif, la mesure est effectuée automatiquement. Retirer la cuve du puits cuve dès que l'appareil le demande.

Les résultats identifiés comme anormaux par le TurbiTimeSystem peuvent nécessiter de retester les échantillons correspondants à d'autres dilutions. Le protocole est décrit dans le manuel d'utilisation du TurbiTimeSystem.

Contrôle de qualité interne

Introduire les N/T Contrôles Protéines SL/L,M et H à chaque nouveau flacon de réactif et à chaque série d'échantillons. Traiter les contrôles comme des échantillons de patients aussi bien dans le test lui-même que pour l'exploitation. Les valeurs théoriques et les domaines de confiance des contrôles sont indiqués dans le tableau des valeurs théoriques.

Si les valeurs obtenues pour les contrôles sortent de leur domaine de confiance respectif, les retester. Si la déviation est confirmée lors du retest, les retester avec un nouveau flacon de réactif. Les résultats de patients ne peuvent être rendus qu'après avoir identifié l'origine de la déviation et y avoir remédié.

Résultats

L'exploitation se fait automatiquement en g/l ou dans une autre unité de masse choisie parmi celles proposées par le TurbiTimeSystem.

Limites du test

En cas de densité optique du mélange réactionnel trop élevée, due par ex. à une turbidité élevée ou à une hémolyse, le TurbiTimeSystem affiche un signal ("turbidité propre de l'échantillon > 1,5 D.O."). Ces échantillons ainsi que les échantillons contenant des particules doivent être centrifugés avant le test (10 min à env. 15 000 x g). Eliminer du test les échantillons lipémiques qui ne peuvent être clarifiés par centrifugation.

Lors d'un dosage de C3, il faut tenir compte du fait que le réactif Turbiquant® C3c réagit plus fortement avec le fragment C3c qu'avec le C3 intact. Selon le degré d'altération et les conditions de conservation des échantillons sériques, la fragmentation du C3 en C3c est plus ou moins avancée. Sur des échantillons fraîchement prélevés, on obtient en dosage immunoturbidimétrique des valeurs de C3 jusqu'à 35% inférieures à celles obtenues sur des échantillons conservés. Lors de la conservation des échantillons sériques, le processus de fragmentation du C4 en C4c plus stable est nettement plus long que celle du C3. Là aussi, on observe en dosage immunoturbidimétrique une augmentation des valeurs de C4 avec la durée de conservation des échantillons.

Dans certains cas rares, la présence d'une immunoglobuline monoclonale peut perturber le dosage du paramètre recherché ou d'une autre protéine plasmatique de même type, de sorte que la protéine recherchée n'est pas reconnue et qu'aucun message d'erreur n'apparaît. Aussi est-il recommandé, en cas de suspicion d'immunoglobuline monoclonale (par ex. en cas de signe de plasmacytome), de redoser la paraprotéine elle-même ainsi que les autres protéines plasmatiques à une dilution plus élevée (par ex. au 1/210 ou au 1/441).

Les résultats de ces tests doivent toujours être interprétés en liaison avec l'historique du patient, son tableau clinique ainsi que les autres résultats d'analyses.

Du fait d'effets matriciels, les résultats obtenus dans le cadre de contrôles nationaux peuvent diverger selon la méthode de dosage utilisée. Il peut dans ces cas-là être nécessaire d'évaluer les résultats selon des valeurs-cibles spécifiques à chaque méthode.

Domaines de référence

Domaines de référence sur des échantillons sériques de sujets adultes sains[7]:

Protéine	
C3c*	0,9 - 1,8 g/l
C4	0,1 - 0,4 g/l

* s'attendre à des valeurs de C3 plus basses sur des échantillons frais

Il est toutefois recommandé à chaque laboratoire de déterminer ses propres domaines de référence, dans la mesure où ils sont soumis à un grand nombre de facteurs d'influence qui varient selon le collectif étudié.

Caractéristiques du test

Domaines de mesure et sensibilité

Domaines de mesure sur le TurbiTimeSystem pour des échantillons dilués au 1/21:

Protéine	**domaine de mesure (g/l)**
C3c	0,3 - 4,5
C4	0,045 - 1,17

Des concentrations plus élevées peuvent être mesurées en diluant les échantillons en sérum physiologique isotonique à une dilution supérieure, par ex. au 1/42. Cette possibilité est décrite dans le manuel d'utilisation du TurbiTimeSystem.

Sur le TurbiTimeSystem, le seuil de mise en évidence est déterminé par la limite inférieure du domaine de mesure du test.

Spécificité

Les antisérums utilisés réagissent chacun avec la protéine intacte du complément corespondante, le C3 ou le C4, et également, et dans une plus large mesure, avec leur produit de dégradation respectif, le C3c ou le C4c.

Précision

La précision des dosages avec Turbiquant® C3c et Turbiquant® C4 a été déterminée avec trois échantillons, dans la série (répétabilité) et de jour à jour (reproductibilité). Les coefficients de variation (CV) suivants ont été obtenus:

Protéine	**Répétabilité (n = 20)**		**Reproductibilité (n = 10)**	
	Valeur moyenne (g/l)	CV (%)	Valeur moyenne (g/l)	CV (%)
C3c	0,39	4,9	0,35	6,5
	0,78	4,0	0,73	5,5
	1,25	4,5	1,20	5,0
C4	0,10	4,9	0,10	7,8
	0,22	3,3	0,22	7,6
	0,38	1,8	0,38	4,7

Comparaison avec une autre méthode

Des échantillons sériques ont été testés en parallèle avec Turbiquant® C3c ou Turbiquant® C4 (y) et avec les N Antisérums anti-Facteurs du complément humains sur le système BN* (x). La corrélation des résultats a fourni les données suivantes:

Protéine	**n**	**Régression linéaire de Passing & Bablok**	**Coefficient de corrélation**
C3c	102	y (TTS) = 1,00 x (BNS) - 0,03 g/l	0,974
C4	433	y (TTS) = 0,95 x (BNS) - 0,01 g/l	0,946

Remarque

Les valeurs indiquées comme "caractéristiques des tests" représentent des résultats types, et ne doivent pas être considérées comme des spécifications des tests Turbiquant® C3c et Turbiquant® C4.

Littérature

Cf. page 1.

Turbiquant est une marque déposée de Dade Behring Marburg GmbH aux USA, en Allemagne et dans d'autres pays.

* BN est une marque de Dade Behring Marburg GmbH aux USA.

Dade Behring Marburg GmbH
Emil-von-Behring-Str. 76
D-35041 Marburg
www.dadebehring.com

CE

Turbiquant® Fattori del complemento (C3c, C4)

Settore d'impiego

Diagnostico *in vitro* per la determinazione quantitativa dei fattori del complemento (C3c, C4) nel siero umano mediante immunoturbidimetria con il Sistema TurbiTime.

Significato diagnostico

Il sistema del complemento è una componente della difesa immunitaria antigene-aspecifica. Può essere attivato attraverso due vie: quella classica, soprattutto per mezzo di immunocomplessi legati alle cellule, e quella alternativa, soprattutto per mezzo di corpi estranei come microrganismi. La componente C3 del complemento è una proteina chiave per entrambe le vie, mentre la C4 appartiene alla via classica di attivazione del complemento. L'attivazione del complemento è associata al consumo delle componenti C3 e C4 e dalla diminuzione delle loro concentrazioni si possono trarre delle conclusioni diagnostiche. Diminuite concentrazioni di C3 e C4 nel siero si osservano soprattutto in presenza di lupus eritematoso sistemico in fase attiva (LES), in presenza di forme di glomerulonefriti membranoproliferative e di disfunzioni dell'immunocomplesso (malattie del siero). Nel caso di LES, la concentrazione sierica dei fattori del complemento è indice dell'attività della malattia. Diminuzioni di C3 intervengono nelle glomerulonefriti acute e nelle glomerulonefriti membranoproleferative, mentre riduzioni isolate di C4 si verificano nell'edema angioneurotico ereditario (EAE) e nelle anemie emolitiche autoimmuni. Entrambe le componenti reagiscono come proteina della fase acuta e quindi la loro concentrazione nel siero può aumentare in pazienti con malattie infiammatorie. Sono stati descritti deficit ereditari di entrambi questi fattori del complemento[1-3].

Principio del metodo

Le proteine presenti nei fluidi umani formano degli immunocomplessi in una reazione immunochimica con anticorpi specifici. L'aumento dell'assorbimento della luce nella miscela di reazione viene misurato fotometricamente. La velocità massima della reazione (V_{max}) (metodo peak-rate) ed il tempo (t_{vmax}) necessario per raggiungere la V_{max} dipende dalla concentrazione dell'analita nel campione[4]. La valutazione avviene confrontando i parametri di reazione misurati con i valori ottenuti per un preparato di riferimento. La curva di calibrazione dipende dal lotto ed è allegata ad ogni confezione sotto forma di codice a barre. Ciò permette anche una compensazione automatica della temperatura.

Reagenti

Contenuto della confezione:

Turbiquant® C3c, codice OUSP *oppure*

Turbiquant® C4, codice OUSR

1 flacone da 20 mL ciascuno

Composizione e standardizzazione

I reagenti Turbiquant® sono antisieri liquidi di origine animale contenenti polimeri idrofili in una soluzione salina tamponata con tricina come acceleratore di reazione. Gli antisieri sono prodotti per immunizzazione di conigli con proteine umane (C3c o C4) altamente purificate. Il contenuto di proteina di ogni reagente è stampato sull'etichetta del flacone.

La standardizzazione del Turbiquant® C3c e Turbiquant® C4 avviene con un preparato di riferimento interno Dade Behring Marburg GmbH con riferimento al preparato di riferimento internazionale CRM 470[5,6].

Conservante

sodio azide < 1 g/L, 5-cloro-2-metil-4-isotiazolo-3one, circa 6 mg/L, 2-metil-4-isotiazolo-3-one, circa 2 mg/L.

Avvertenze e precauzioni

1. Solo per uso diagnostico *in vitro.*
2. Quando si impiegano diagnostici *in vitro* contenenti sodio azide osservare le seguenti precauzioni: non ingerire ed evitare il contatto con la cute e le mucose. La sodio azide a contatto con metalli pesanti, come rame o piombo, può formare azidi esplosive.

Preparazione del reagente

I reagenti Turbiquant® sono pronti all'uso e possono essere impiegati senza ulteriori trattamenti preliminari.

Conservazione e stabilità

Conservazione a +2/+8 °C:

La data di scadenza è indicata sull'etichetta.

Stabilità dopo apertura:

8 settimane, se conservato a +2/+8 °C ben chiuso subito dopo l'uso con tappo in gomma e tappo con avvitatura. Anche se conservato secondo le istruzioni, i reagenti Turbiquant" possono presentare una piccola flocculazione e intorbidamento. Ciò non è dovuto a contaminazione e non pregiudica il test. Non congelare i reagenti.

Altro materiale necessario ma non fornito

Sistema TurbiTime

N/T Controllo proteine SL/L, M e H (umano), codice OQIN, OQIO, OQIP

Pipette a stantuffo da 50 µL, 200 µL, 500 µL e 1000 µL

Soluzione isotonica salina (9 g NaCl/L)

Materiale di consumo ed attrezzature come descritto nel manuale d'uso del Sistema TurbiTime.

Campioni in esame

Si impiegano come campioni in esame sieri freschi il più possibile. Evitare ripetuti congelamenti e scongelamenti. I campioni di siero devono essere completamente coagulati e dopo centrifugazione non devono contenere particelle o tracce di fibrina. I campioni lipemici devono essere chiarificati prima del test (10 minuti a ca. 15.000 x g).

Esecuzione del test

Nota:

1. Per maggiori informazioni fare riferimento al manuale d'uso del Sistema TurbiTime.
2. Portare i reagenti a temperatura ambiente (+18/+25 °C) prima dell'impiego sul Sistema TurbiTime.
3. Se nonostante ripetuti tentativi di inserimento il codice a barre non viene riconosciuto (Messaggio: "Please key in code for reagent"), introdurre da tastiera le quattro cifre del codice stampate sull'etichetta del flacone.
4. I volumi predeterminati del reagente e del campione devono essere assolutamente rispettati, in quanto la calibrazione si basa su questi volumi

Lettura della curva di calibrazione

Nel manuale d'uso del Sistema TurbiTime è descritto come leggere il codice a barre.

Misurazione dei campioni dei pazienti

Diluire i campioni dei pazienti 1:21 con soluzione isotonica salina. Le diluizioni devono essere misurate entro 4 ore. Posizionare il flacone del reagente nell'apposito alloggiamento del Sistema TurbiTime. Dispensare 50 µL (C3c) o 200 µL (C4) di campione diluito nella cuvetta con ancoretta. Prima di pipettare il campione, lavare il puntale della pipetta una volta con il campione (v. istruzioni del produttore delle pipette). Il campione deve essere pipettato sul fondo della cuvetta. Inserire le cuvette nell'apposito supporto. Dispensare 500 µL di reagente non appena lo strumento lo richiede. Nel pipettare il reagente, introdurre il puntale per circa 1 cm nella cuvetta. La misura viene eseguita automaticamente dopo aggiunta del reagente. Rimuovere le cuvette dal supporto non appena lo strumento lo segnala. I risultati che generano un messaggio di stato sul Sistema TurbiTime, richiedono la ripetizione della misurazione con ulteriori diluizioni del campione. Ciò è descritto nel manuale d'uso del Sistema TurbiTime.

Controllo di qualità interno

Gli N/T Controlli proteine SL/L, M e H devono essere analizzati quando si usa un flacone di reagente per la prima volta e per ogni serie di campioni. I controlli vengono analizzati e valutati come i campioni dei pazienti. Il valore teorico e l'intervallo di accettabilità dei controlli sono indicati nella "Tabella dei valori teorici".

Se il risultato delle misurazioni del controllo si trova al di fuori dell'intervallo di accettabilità, la determinazione deve essere ripetuta. Se anche questa misurazione conferma la deviazione, la misurazione del controllo deve essere ripetuta su un nuovo flacone di reagente. I risultati dei pazienti devono essere rilasciati solo dopo aver identificato e rimosso le cause della deviazione.

Risultati

La valutazione avviene automaticamente in g/L o unità derivate, selezionate dall'operatore del Sistema TurbiTime.

Limitazioni della esecuzione del test

Se all'inizio della reazione l'assorbimento è troppo elevato, ad es. a causa di una forte torbidità o emolisi, il Sistema TurbiTime emette il messaggio ("campione torbido assorbimento > 1.5A"). Questi campioni e quelli contenenti particelle devono essere centrifugati (10 minuti a circa 15 000 x g) prima del test. I campioni lipemici che non possono essere chiarificati mediante centrifugazione, devono essere esclusi dal test.

Nella determinazione del C3, occorre tenere presente che il reagente Turbiquant® C3c reagisce molto più fortemente con il frammento C3c che con il C3 intatto. A seconda del grado di invecchiamento e delle condizioni di conservazione del materiale da esaminare, la frammentazione da C3 a C3c può progredire in maniera differente. Nei campioni freschi si sono riscontrati, nella determinazione immunoturbidimetrica, valori di C3 fino al 35% più bassi rispetto ai campioni invecchiati. Durante la conservazione dei campioni, la frammentazione da C4 a C4c più stabile, avviene molto più lentamente rispetto alla componente C3. Anche in questo caso, nella determinazione immunoturbidimetrica, si può osservare, aumentando i tempi di conservazione, un aumento dei valori di C4.

In alcuni casi la presenza di immunoglobuline monoclonali può interferire con la determinazione del parametro stesso e con la determinazione di altre proteina plasmatiche dello stesso tipo, per cui l'identificazione non è possibile e non può essere emesso un messaggio di stato. Pertanto, se si sospetta la presenza di immunoglobuline monoclonali (o indicazione di un plamacitoma), la determinazione della stessa proteina plasmatica e delle altre plasmaproteine deve essere ripetuta con una diluizione più alta (ad es. 1:210, 1:441).

Il risultato del test deve essere sempre interpretato in relazione alla storia clinica del paziente, al quadro clinico e ai risultati di altre analisi.

A causa dell'effetto matrice, si possono ottenere risultati differenti per i campioni delle indagini interlaboratori e di controllo, a causa del metodo utilizzato per la determinazione. Pertanto, potrebbe essere necessario eseguire la valutazione di questi risultati con valori di target specifici del lotto.

Intervalli di riferimento

I seguenti intervalli di riferimento si riferiscono a campioni di siero di adulti sani esaminati[7].

Proteina		
C3c*	0,9 - 1,8	g/L
C4	0,1 - 0,4	g/L

* Campioni di siero freschi dovrebbero presentare concentrazioni di C3 più basse.

Intervalli di riferimento per l'albumina nell'urina e nel liquor.

Inoltre, ogni laboratorio dovrebbe determinare il proprio intervallo di riferimento, in quanto soggetti a molte variabili legate alla popolazione esaminata.

Caratteristiche specifiche del test

Intervallo di misura e sensibilità

I seguenti intervalli di misura sono validi per il Sistema TurbiTime se si usano campioni diluiti 1:21:

Proteina	**Intervallo di misura (g/L)**
C3c	0,3 - 4,5
C4	0,045 - 1,17

Le concentrazioni più elevate possono essere determinate se i campioni vengono diluiti con soluzione isotonica salina in concentrazione corrispondentemente più elevate, ad es. 1:42. Ciò è descritto nel manuale d'uso del Sistema TurbiTime.

La sensibilità del Sistema TuriTime è determinata dal limite inferiore dell'intervallo di misura di un test.

Specificità

Gli antisieri reagiscono con le proteine del complemento C3c e C4 intatte e in larga misura con i loro prodotti di scissione C3c e C4c.

Precisione

La precisione della determinazione con Turbiquant® C3c e C4 è stata determinata sia nella serie (intra-serie) sia di giorno in giorno (inter-serie) con diversi campioni. Si sono ottenuti i seguenti coefficiente di variazione:

Proteina	**Precisione intra-serie (n = 20)**		**Precisione inter-serie (n = 10)**	
	Media (g/L)	CV (%)	Media (g/L)	CV (%)
C3c	0,39	4,9	0,35	6,5
	0,78	4,0	0,73	5,5
	1,25	4,5	1,20	5,0
C4	0,10	4,9	0,10	7,8
	0,22	3,3	0,22	7,6
	0,38	1,8	0,38	4,7

Confronto tra metodi

I campioni sono stati analizzati con Turbiquant® C3c o Turbiquant® C4 (y) e con N Antisiero contro i fattori del complemento umano sul Sistema BN* (x). La correlazione dei risultati ha dato i seguenti dati:

Proteina	**n**	**Regressione Passing-Bablok**	**Coefficiente di correlazione**
C3c	102	y (TTS) = 1,00 x (BNS) - 0,03 g/L	0,974
C4	433	y (TTS) = 0,95 x (BNS) - 0,01 g/L	0,946

Nota: I valori indicati per le "Caratteristiche specifiche del test" indicano risultati tipici e non devono essere considerati come specifiche per il test Turbiquant® C3c e Turbiquant® C4.

Bibliografia

Vedi pagina 1

Turbiquant è un marchio registrato della Dade Behring Marburg GmbH negli USA, in Germania e negli altri Paesi.

* BN è un marchio registrato della Dade Behring Marburg GmbH negli USA.

Dade Behring Marburg GmbH
Emil-von-Behring-Str. 76
D-35041 Marburg
www.dadebehring.com

Edizione Ottobre 2003

Turbiquant® Factores del complemento (C3c, C4)

Campos de aplicación

Reactivos de diagnóstico *in-vitro* para la determinación cuantitativa de los factores del complemento (C3c o C4) en sueros humanos por medio de inmunoturbidimetría con el TurbiTimeSystem.

Significado diagnóstico

El sistema del complemento es un componente de la respuesta inmunológica no específica al antígeno. Este sistema puede ser activado por 2 vías, la vía clásica que es activada principalmente por complejos inmunitarios adheridos a la célula y la vía alterna la cual es activada especialmente por cuerpos extraños, como microorganismos. El componente C3 del complemento es una proteína clave para las dos vías de activación, mientras que C4 solamente pertenece a la vía de activación clásica. La activación del complemento ocasiona un gasto en los componentes C3 o C4, de tal forma que de una disminución en su concentración se pueden sacar conclusiones diagnósticas.

Bajas concentraciones de C3 y C4 en el suero se observan, sobre todo, en lupus eritematoso sistémico (LES), en algunas formas de glomerulonefritis membranoproliferativa y en enfermedades por inmunocomplejos (enfermedad del suero). En LES la concentración en el suero de los factores del complemento refleja la actividad de la enfermedad. Disminuciones de C3 se presentan en glomerulonefritis aguda y glomerulonefritis membranoproliferativa, mientras que disminuciones aisladas de C4 pueden aparecer en edema angioneurótico hereditario y en anemia hemolítica autoinmunitaria. Los dos componentes del complemento reaccionan como proteínas de fase aguda débiles y pueden, por lo tanto, presentar concentraciones elevadas en el suero en enfermedades infecciosas. En la literatura están descritos estados de deficiencia hereditaria de estos dos factores del complemento[1-3].

Principio del método

Las proteínas contenidas en líquidos corpóreos humanos forman inmunocomplejos, en una reacción inmunoquímica con anticuerpos específicos. El aumento de la absorción de la luz del preparado de la reacción ocasionado por esto, se sigue fotométricamente. La velocidad máxima de reacción $V_{máx}$ (Método Peakrate) y el tiempo ($t_{vmáx}$) que se necesita para alcanzar esta $V_{máx}$ son dependientes de la concentración de proteína en la muestra[4]. La valoración se hace comparando la medida de los parámetros de la reacción con los valores obtenidos con un preparado de referencia. La curva de referencia depende del lote de carga y viene dada en forma de código de barras en cada envase de reactivos. Esto permite además una compensación automática de la temperatura.

Reactivos

Contenido del envase comercial:

Turbiquant® C3c, N° de pedido OUSP o

Turbiquant® C4, N° de pedido OUSR

1 frasco con 20 ml por c/u.

Composición y estandarización

Los reactivos Turbiquant® son antisueros líquidos de origen animal, los cuales contienen, como aceleradores de la reacción, polímeros hidrofílicos en una solución de cloruro de sodio tamponada con tricina. Los antisueros son producidos mediante la inmunización de conejos con proteínas humanas (C3c o C4) de alta pureza. El contenido de proteína de los respectivos reactivos viene dado en la etiqueta del frasco.

La estandarización de Turbiquant® C3c o del Turbiquant® C4 se realiza con un preparado de referencia de Dade Behring Marburg GmbH con respecto a la preparación de referencia internacional CRM 470[5,6].

Medio de conservación

azida de sodio < 1g/l, 5-cloro-2-metil-4-isotiazol-3-ona, aprox. 6 mg/l, 2-metil-4-isotiazol-3-ona, aprox. 2 mg/l

Advertencias y medidas de seguridad

1. Sólo para ser utilizado en diagnósticos *in-vitro*.
2. En el manejo de diagnósticos *in-vitro* que contengan azida de sodio debe observarse la siguiente regla:

   No ingerir y evitar contacto con la piel y mucosas. La azida de sodio puede formar azidas explosivas con metales pesados como cobre y plomo.

Preparación de reactivos

Los reactivos Turbiquant® vienen listos para ser usados y pueden utilizarse sin ningún tratamiento preliminar.

Estabilidad y almacenaje

Almacenamiento entre +2 y +8 °C:

La fecha de vencimiento viene indicada en la etiqueta;

Estabilidad después de reconstituido:

8 semanas, siempre que después de usarse, se mantengan almacenados entre +2 y +8 °C, perfectamente cerrados con un tapón de goma y una tapa de rosca.

Los reactivos Turbiquant® pueden presentar algo de floculación o turbidez aún almacenados de acuerdo a las indicaciones. Estas no son ocasionadas por falta de esterilidad y no tienen influencia sobre los resultados medidos.

Los reactivos no se deben congelar.

Materiales adicionales necesarios:

TurbiTimeSystem

N/T Proteína Control SL/L, M y H (humanos), N° de pedido, OQIN, OQIO y OQIP

Pipetas de émbolo, 50 µl, 200 µl, 500 µl y 1000 µl

Solución salina isotónica (9 g NaCl/l)

El material de consumo y equipos vienen descritos en el manual de operaciones del TurbiTimeSystem.

Material a investigar

Como material de investigación se deben usar, en lo posible, muestras de sueros humanos frescas. Evite repetidas congelaciones y descongelaciones. Las muestras de suero deben estar completamente coaguladas y no presentar partículas o restos de fibrina después de centrifugadas. Las muestras lipémicas deben aclararse por centrifugación (10 min. a aprox. 15.000 x g) antes de su determinación.

Procedimiento

Advertencia:

1. Los detalles sobre el manejo del TurbiTimeSystem se deben tomar del manual de operaciones del aparato.
2. Los reactivos y las muestras deben haber alcanzado la temperatura ambiente (entre +18 y +25 °C) antes de ser medidos con el TurbiTimeSystem.
3. Si después de varias repeticiones del proceso de colocación del frasco de reactivo, el código de barras no es reconocido (señal: "dar código del reactivo"), deberá introducirse en el aparato, el código de cuatro cifras que viene dado en la etiqueta del frasco, con la ayuda del teclado.
4. Los volúmenes de reactivo y de muestra dados deben cumplirse exactamente, ya que la curva de calibración se refiere a estos volúmenes.

Lectura de la curva de referencia

La lectura del código de barras viene descrita en el manual de operaciones del TurbiTimeSystem.

Medida de las muestras de pacientes

Diluir las muestras de sueros 1:21 con solución salina isotónica. Las diluciones se deben medir dentro de las 4 horas siguientes. Colocar el frasco del reactivo en el portafrascos del TurbiTimeSystem. Colocar 50 µl (C3c) o 200 µl (C4) de la muestra diluida en una cubeta con agitador. Antes de pipetear, la punta de la pipeta debe ser lavada una vez con la muestra. (Ver manual de operaciones del fabricante de la pipeta). Al pipetear la muestra, la punta de la pipeta debe estar cerca del fondo de la cubeta. Colocar la cubeta en el portacubetas. Pipetear 500 µl del reactivo tan pronto lo indique el aparato. Al pipetear tener en cuenta que la punta de la pipeta entre aproximadamente 1 cm dentro de la cubeta. La medida se realiza automáticamente después de agregar el reactivo. Retirar la cubeta del portacubetas tan pronto lo indique el aparato.

Los resultados que ocasionen en el TurbiTimeSystem una señal estatus, hacen necesaria la repetición de la medida a otras diluciones de la muestra. Estas vienen descritas en el manual de operaciones del TurbiTimeSystem.

Control de calidad interno

Al utilizar el reactivo por primera vez, así como con cada serie de muestras, se deben usar los N/T Proteína Controles SL/L, M y H. Los controles deben ser manejados en la determinación y en la valoración como las muestras de pacientes. Los valores teóricos y el rango de confianza de los controles se deben tomar de la Tabla de valores teóricos correspondientes.

Si los resultados de las medidas de control se encuentran por fuera del rango de confianza, se debe repetir la determinación. Si después de la repetición, se comprueba la desviación, se debe realizar una nueva medida de los controles usando un nuevo frasco del reactivo. Los resultados de los pacientes deben ser entregados únicamente cuando la causa de esta desviación sea conocida y eliminada.

Resultados

La valoración es realizada automáticamente en g/l o en una unidad derivada seleccionada por el usuario del TurbiTimeSystem.

Limitaciones del procedimiento

Para una absorción muy alta del preparado de la reacción, por ejemplo, debido a turbidez fuerte o a hemólisis, el TurbiTimeSystem da una señal de alarma ("Turbidez propia de la muestra > 1,5 E"). Esta clase de muestras, así como, muestras que contengan partículas deberán ser centrifugadas antes de la determinación (10 min. a aproximadamente 15.000 x g). Las muestras lipémicas, que no se dejen aclarar por centrifugación, se deben excluir de la determinación.

En la determinación de C3 se debe tener en cuenta que el reactivo Turbiquant® C3c reacciona más fuertemente con el fragmento C3c que con el C3 intacto. Dependiendo del grado de envejecimiento y de las condiciones de almacenamiento de la muestra de suero, la fragmentación de C3 a C3c puede encontrarse en diferentes etapas de desarrollo. En la determinación inmunoturbidimétrica se obtienen para muestras frescas valores de C3 hasta un 35% más bajos que en muestras de más tiempo. La fragmentación de C4 en el fragmento más estable C4c durante el almacenamiento de la muestra de suero ocurre de una manera mucho más lenta que la del componente C3 . En este caso, se observa también en la determinación inmunoturbidimétrica una disminución del valor de C4 con al aumento del periodo de almacenamiento.

En algunos casos raros, la presencia de una inmunoglobulina monoclonal puede alterar la determinación del parámetro mismo, así como la determinación de otras proteínas plasmáticas, de tal manera que no es posible reconocer ninguna señal estatus. Por lo tanto, si se sospecha la presencia de una inmunoglobulina monoclonal (o indicación de un plasmacitoma) la determinación de la paraproteína misma y la de las otras proteínas plasmáticas, se debe repetir a una dilución mayor / por ej., 1:210, 1:441).

Los resultados de este test deben ser interpretados siempre junto con la historia anterior del paciente, el cuadro clínico y los resultados de otras investigaciones.

Debido a los efectos matriz, las muestras para analizar inter-laboratorios y las muestras control pueden producir resultados diferentes, dependiendo del método utilizado para la determinación. Por esta razón, es necesario evaluar estos resultados en relación con valores objetivo específicos del método.

Rango de referencia

Para muestras de suero de sujetos adultos sanos es válido el siguiente rango de referencia[7]:

Proteína	
C3c*	0,9 - 1,8 g/l
C4	0,1 - 0,4 g/l

* En muestras de suero frescas se esperan concentraciones de C3 más bajas.

Por otra parte, cada laboratorio deberá determinar su propio rango de referencia, ya que éste se encuentra influenciado por muchos factores, que pueden ser diferentes para cada colectivo investigado.

Características de la determinación

Rango de medida y sensibilidad

Utilizando muestras diluidas 1:21 en el TurbiTimeSystem son válidos los siguientes rangos de medida:

Proteína	**Rango de medida (g/l)**
C3c	0,3 - 4,5
C4	0,045 - 1,17

Concentraciones elevadas pueden ser determinadas, si las muestras se llevan a diluciones mayores con solución salina isotónica, por ej., 1:42. Esto viene descrito es el manual de operaciones del TurbiTimeSystem.

El límite de detección en el TurbiTimeSystem está fijo por el límite inferior de medida de un ensayo.

Especificidad

Los antisueros utilizados reaccionan con las proteínas del complemento C3 o C4 intactas, así como, en una escala mucho mayor con los productos de fragmentación C3c o C4c.

Precisión

La precisión de la determinación con el Turbiquant® C3c o C4 se determino tanto en la serie (intra assay) como en el día a día (inter assay), obteniéndose los siguientes coeficientes de variación (CV):

Proteina	**Precisión intra assay (n = 20)**		**Precisión inter assay (n = 10)**	
	Valor promedio (g/l)	CV (%)	Valor promedio (g/l)	CV (%)
C3c	0,39	4,9	0,35	6,5
	0,78	4,0	0,73	5,5
	1,25	4,5	1,20	5,0
C4	0,10	4,9	0,10	7,8
	0,22	3,3	0,22	7,6
	0,38	1,8	0,38	4,7

Comparación de métodos

Se estudiaron muestras de suero con Turbiquant® C3c o Turbiquant® C4 (y) y de forma paralela con los N Antisueros contra los factores del complemento humano en el sistema BN* (x). La correlación de los resultados dio los siguientes datos:

Proteína	**n**	**Regresión Passing-Bablok**	**Coeficiente de Correlación**
C3c	102	y (TTS) = 1,00 x (BNS) - 0,03 g/l	0,974
C4	433	y (TTS) = 0,95 x (BNS) - 0,01 g/l	0,946

Nota

Los valores dados para las "características del método" representan valores típicos y no deben ser tomados como especificaciones para Turbiquant® C3c o C4.

Literatura

Ver página 1

Turbiquant es una marca de fábrica registrada de Dade Behring Marburg GmbH en USA, Alemania y en otros países.

* BN es una marca de fábrica de Dade Behring GmbH en USA.

Dade Behring Marburg GmbH
Emil-von-Behring-Str. 76
D-35041 Marburg
www.dadebehring.com

Turbiquant® Factores do complemento (C3c, C4)

Campo de aplicação

Diagnósticos *in vitro* para a determinação quantitativa dos factores do complemento (C3c ou C4) no soro humano, através da imunoturbidimetria com o sistema TurbiTime.

Significado diagnóstico

O sistema complemento é um componente da defesa imunitária contra os antigenes não específicos. Pode ser activado através de duas vias de reacção: a via clássica, activada sobretudo pelos imunocomplexos ligados às células e a via alternativa que é activada, sobretudo, pelos corpos estranhos como os microorganismos. O componente do complemento C3 é uma proteína-chave das duas vias de reacção, enquanto que o componente C4 faz parte da via de activação clássica. A activação do complemento está associada a um consumo dos componentes C3 ou C4, pelo que, é possível estabelecer conclusões diagnósticas a partir da diminuição da sua concentração. As concentrações reduzidas de C3 e C4 no soro são observadas, sobretudo, nos casos de lúpus eritematoso sistémico activo (LES), nas formas de glomerulonefrite membranoproliferativa e nas doenças imunocomplexas (doença sérica). No LES, a redução da concentração dos factores do complemento no soro traduz a actividade da doença. Reduções de C3 aparecem nos casos de glomerulonefrite aguda e glomerulonefrite membranoproliferativa, enquanto que reduções isoladas de C4 podem ocorrer nos casos de angioedema hereditário (AEH) e anemia hemolítica auto-imune. Os dois componentes do complemento reagem como proteína de fase aguda fraca e, por conseguinte, podem apresentar concentrações séricas elevadas no caso de doenças inflamatórias. Foram descritos estados deficitários dos dois factores do complemento[1-3].

Princípio metodológico

As proteínas contidas nos fluidos corporais humanos formam imunocomplexos numa reacção imunoquímica com anticorpos específicos. O aumento da absorção luminosa da preparação de reacção é observado por fotometria. A velocidade máxima de reacção V_{max} (método peakrate) e o tempo (t_{ymax}) necessário para atingir a V_{max}, dependem da concentração da proteína na amostra[4]. A avaliação é feita por comparação dos parâmetros de reacção medidos com os valores obtidos para um preparado de referência. A curva de referência depende do lote e está anexa a cada embalagem sob a forma de um código de barras. Este permite, além disso, uma compensação automática da temperatura.

Reagentes

Conteúdo da embalagem comercial

Turbiquant® C3c, ref. OUSP ou

Turbiquant® C4, ref. OUSR

1 Frasco de cada com 20 ml

Composição e standardização

Os reagentes Turbiquant® são antisoros líquidos de origem animal, que contêm polímeros hidrófilos numa solução de cloreto de sódio com tampão de tricina, como aceleradores da reacção. Os antisoros são produzidos a partir da imunização de coelhos com proteínas humanas altamente purificadas (C3c ou C4). O teor de proteínas do respectivo reagente está impresso no rótulo do frasco.

A estandardização de Turbiquant® C3c ou Turbiquant® C4 é efectuada com um preparado de referência interna da Dade Behring Marburg GmbH, tomando por referência o preparado de referência internacional CRM 470[5,6].

Conservante

Azida de sódio < 1 g/l, 5-cloro-2-metil-4-isotiazol-3-on, aprox. 6 mg/l, 2-metil-4-isotiazol-3-on aprox. 2 mg/l

Advertências e medidas de precaução

1. Só para uso diagnóstico *in vitro.*
2. Precauções a observar ao lidar com reagentes para diagnóstico *in vitro* com teor de azida sódica: Evitar ingerir e todo o contacto com a pele ou mucosas! Com metais pesados, como cobre ou chumbo, a azida de sódio pode formar azidas explosivas.

Preparação do reagente

Os reagentes Turbiquant® estão prontos para uso e podem ser utilizados sem quaisquer tratamentos prévios.

Estabilidade e condições de conservação

Conservação entre +2 e +8 °C:

A data de expiração está indicada no rótulo;

Estabilidade após abertura:

8 Semanas, desde que fechados hermeticamente imediatamente após o uso com um bujão de borracha e tampa roscada e conservados entre +2 e +8 °C.

Os reagentes Turbiquant® , mesmo em caso de conservação adequada, podem apresentar floculações ou turvações insignificantes. Estas não são provocadas por ausência de esterilidade e não prejudicam o resultado da medição.

Os reagentes não devem ser congelados.

Outros materiais necessários

Sistema TurbiTime

N/T Controlo de proteína SL/L, M e H (humana), ref. OQIN, OQIO e OQIP

Pipeta com seringa, 50 µl, 200 µl, 500 µl e 1000 µl

Solução isotónica de cloreto de sódio (9 g NaCl/l)

Material de consumo e equipamento descrito no manual de utilização do sistema TurbiTime.

Material de análise

Para a medição devem ser utilizadas amostras de soro humano tão frescas quanto possível. Evitar o congelamento e o descongelamento repetidos. As amostras de soro devem estar completamente coaguladas e não apresentar partículas ou vestígios de fibrina após a centrifugação. As amostras lipémicas deverão ser clarificadas através de centrifugação (10 min. a aprox.15 000 x g) antes da determinação ser feita.

Procedimento

Indicações

1. Consulte os pormenores de manipulação do sistema TurbiTime no manual de utilização.
2. Antes da medição no sistema TurbiTime, os reagentes e as amostras deverão ter atingido a temperatura ambiente (+18 a + 25 °C).
3. Se, apesar da repetição frequente da operação de ajuste do frasco de reagente, o código de barras não for identificado (Visualização: "Introduzir código do reagente"), é preciso introduzir com o teclado o código com 4 cifras do rótulo do frasco.
4. É imprescindível respeitar os volumes pré-estabelecidos para os reagentes e amostras, uma vez que a curva de calibração se refere a esses volumes.

Leitura da curva de referência

A leitura do código de barras vem descrita no manual de utilização do sistema TurbiTime.

Medição de amostras de pacientes

As amostras de soro são diluídas com solução isotónica de cloreto de sódio na relação 1:21. As diluições têm de ser medidas num intervalo de tempo de 4 horas. Colocar o frasco de reagente no canal do sistema TurbiTime. Expor 50 µl da amostra diluída (C3c) ou 200 µl (C4) numa cuvete com agitador. Antes de pipetar, a ponta da pipeta tem de ser enxaguada previamente com a amostra (veja as instruções de uso do fabricante da pipeta). Ao pipetar a amostra, a ponta da pipeta tem de ficar próxima do fundo da cuvete. Colocar a cuvete no canal. Pipetar 500 µl de reagente, logo que o aparelho o indicar. Ao pipetar, a ponta da pipeta tem de ficar introduzida na cuvete em cerca de 1 cm. A medição efectua-se automaticamente depois de o reagente ser adicionado. Retirar a cuvete do canal do reagente, logo que o aparelho o indicar.

Os resultados causadores de uma mensagem de status no sistema TurbiTime podem tornar necessária a repetição da medição a partir de mais diluições da amostra. Esta situação está descrita no manual de utilização do sistema TurbiTime.

Controlo de qualidade interno

Os N/T Controlos de proteína SL/L, M e H devem ser empregues quando um frasco de reagente é utilizado pela primeira vez e em cada série de amostras. Na preparação e na interpretação do teste, os controlos são tratados como as amostras do paciente. Consultar o valor nominal e o intervalo de confiança dos controlos na respectiva tabela de valores nominais.

Se o resultado das medições de controlo se situar fora do intervalo de confiança, é necessário repetir a determinação do controlo. Se o desvio for confirmado pela repetição da medição, deverá ser efectuada uma nova medição dos controlos com um novo frasco de reagente.

Os resultados do paciente só deverão ser aprovados novamente quando a causa do desvio for identificada e corrigida.

Resultados

A avaliação é efectuada automaticamente em g/l ou numa unidade volumétrica derivada, a seleccionar pelo utilizador no sistema TurbiTime.

Limitações do procedimento

No caso de a absorção da preparação do reagente ser demasiado elevada, p. ex., em consequência de forte turvação ou hemólise, o sistema TurbiTime emite uma advertência ("Turvação própria da amostra > 1,5 E"). Essas amostras e as amostras que contêm partículas têm de ser centrifugadas antes da determinação (10 minutos a aprox. 15.000 x g). As amostras lipémicas que não se conseguem clarificar com a centrifugação deverão ser excluídas da determinação.

Para a determinação de C3 é necessário tomar em consideração que o reagente Turbiquant® C3c reage mais energicamente com o fragmento C3c do que com o C3 intacto. Consoante o grau de envelhecimento e as condições de conservação das amostras séricas, a fragmentação de C3 em fragmento C3c progride diferentemente. Na determinação imuno-turbidimétrica, com as amostras frescas obtêm-se valores de C3 até 35% inferiores aos das amostras envelhecidas. No caso de as amostras séricas serem conservadas, a fragmentação de C4 em fragmento C3 estável decorre de forma substancialmente mais lenta do que a do componente C3. Neste caso, também pode observar-se um aumento dos valores C4 com o aumento da duração de conservação.

Esporadicamente, a existência de uma imunoglobulina monoclonal pode perturbar a determinação do próprio parâmetro e também a determinação das outras proteínas plasmáticas de tal maneira que a detecção não é possível e a mensagem de status não pode ter lugar. Por isso, em caso de suspeita da existência de uma imunoglobulina monoclonal (ou indicação de plasmocitoma), a determinação da própria paraproteína e a determinação das outras proteínas plasmáticas deverão ser repetidas a partir de uma diluição superior (p. ex., 1:210, 1:441).

Os resultados destes testes deverão ser sempre interpretados em conexão com os antecedentes do paciente, o quadro clínico e os outros resultados de análise.

Devido aos efeitos matriciais, as amostras de controlo ou amostras de investigação interlaboratorial podem apresentar resultados diversos, em função dos métodos de determinação utilizados. Por isso, poderá ser necessário proceder à avaliação destes resultados com base em valores alvo específicos do método pré-fixados.

Intervalos de referência

Às amostras de soro dos indivíduos adultos testados saudáveis aplicam-se os seguintes intervalos de referência[7]:

Proteína	
C3c*	0,9 - 1,8 g/l
C4	0,1 - 0,4 g/l

* Nas amostras séricas frescas, são espectáveis concentrações de C3 mais baixas.

Além disso, cada laboratório deverá determinar os seus intervalos de referência próprios, já que estes dependem de muitos factores de influência que podem variar consoante a população examinada.

Características do teste

Intervalo de medição e sensibilidade

Em caso de utilização de amostras diluídas na relação 1:21, no sistema TurbiTime aplicam-se os seguintes intervalos de medição:

Proteína	**Intervalo de medição (g/l)**
C3c	0,3 - 4,5
C4	0,045 - 1,17

Podem ser determinadas concentrações superiores, se amostras forem sujeitas a uma diluição superior com solução isotónica de cloreto de sódio, p. ex.,1:42. Esta situação vem descrita no manual de utilização do sistema TurbiTime.

O limite de detecção no sistema TurbiTime é definido pelo limite inferior do intervalo de medição do ensaio.

Especificidade

Os antisoros utilizados reagem com as proteínas do complemento intactas C3 ou C4, bem como, em maior escala, com os produtos de desintegração de C3c ou C4c.

Precisão

A precisão da determinação com Turbiquant® C3c ou C4 foi determinada na série (Intra-ensaio) e no dia a dia (Inter-ensaio) sempre com três amostras. Neste caso, resultaram os seguintes coeficientes de variação (CV):

Proteína	**Precisão Intra-ensaio (n = 20)**		**Precisão Inter-ensaio (n = 10)**	
	Valor médio (g/l)	CV (%)	Valor médio (g/l)	CV (%)
C3c	0,39	4,9	0,35	6,5
	0,78	4,0	0,73	5,5
	1,25	4,5	1,20	5,0
C4	0,10	4,9	0,10	7,8
	0,22	3,3	0,22	7,6
	0,38	1,8	0,38	4,7

Comparação de métodos

Foram determinadas amostras séricas com Turbiquant® C3c ou Turbiquant® C4 (y) e, em paralelo, no sistema BN (x) com os N antisoros contra os factores do complemento humanos. A correlação de resultados forneceu os seguintes dados:

Proteína	**n**	**Regressão Passing-Bablok**	**Coeficiente de correlação**
C3c	102	y (TTS) = 1,00 x (BNS) - 0,03 g/l	0,974
C4	433	y (TTS) = 0,95 x (BNS) - 0,01 g/l	0,946

Observação

Os valores indicados para as "características de performance" da determinação constituem resultados típicos e não deverão ser considerados como especificações para Turbiquant® C3c ou C4.

Bibliografia

Veja a página 1

Turbiquant é uma marca registada da Dade Behring Marburg GmbH nos EUA, Alemanha e noutros países.

* BN é uma marca de fábrica da Dade Behring Marburg GmbH nos EUA.

Dade Behring Marburg GmbH
Emil-von-Behring-Str. 76
D-35041 Marburg
www.dadebehring.com

CE

Symbols Key / Symbolschlüssel / Explication des Symboles / Interpretazione simboli / Clave de los Símbolos / Chave dos Símbolos	
	Manufactured by / Hergestellt von / Fabriqué par / Prodotto da / Fabricado por
IVD	*In Vitro* Diagnostic Medical Device / *In Vitro* Diagnosticum / Dispositif Médical Diagnostic *In Vitro* / Dispositivo Medico per Diagnostica *In Vitro* / Producto sanitario para Diagnóstico *In Vitro*
LOT	Lot Number / Chargenbezeichnung / Numéro de Lot / Numero di Lotto / Número de Lote
EXP CCYY-MM-DD	Expiration Date / Verfalldatum / Date de Péremtion / data di scadenza / Fecha de vencimiento / termo da validade
	Storage Temperature / Lagertemperatur / Température de Conservation / Temperatura di conservazione / Temperatura de almacenamiento / Temperatura de armazenagem
CE	CE Mark / CE-Zeichen / Marquage CE / Marchio CE / CE Marca / Marca CE
REF	Catalogue Number / Katalog Nummer / Référence / Codice Catalogo / Número de Catálogo
	Consult Instructions for Use / Gebrauchsanweisung beachten / Consulter la Notice d'Utilisation / Istruzioni per l'uso / Consultar Instucciones para el Uso / Consulte as Instruções de Utilização

Edição Outubro 2003